

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平6-167501

(43)公開日 平成6年(1994)6月14日

(51)Int.Cl.<sup>5</sup>

G 0 1 N 33/68

33/536

33/543

識別記号

庁内整理番号

F I

技術表示箇所

7055-2 J

F 8310-2 J

F 9217-2 J

審査請求 有 請求項の数10(全 13 頁)

(21)出願番号

特願平5-164842

(22)出願日

平成5年(1993)7月2日

(31)優先権主張番号

P 4 2 2 1 8 0 7 . 1

(32)優先日

1992年7月3日

(33)優先権主張国

ドイツ (DE)

(71)出願人 591005589

ベーリンガー・マンハイム・ゲゼルシャフト・  
ミット・ベシュレンクテル・ハフツング

BOEHRINGER MANNHEIM  
GESELLSCHAFT MIT B  
ESCHRANKTER HAFTUNG  
ドイツ連邦共和国、デー-68298 マンハ  
イム、ザントホーファー シュトラーセ  
116

(74)代理人 弁理士 佐木 啓二 (外3名)

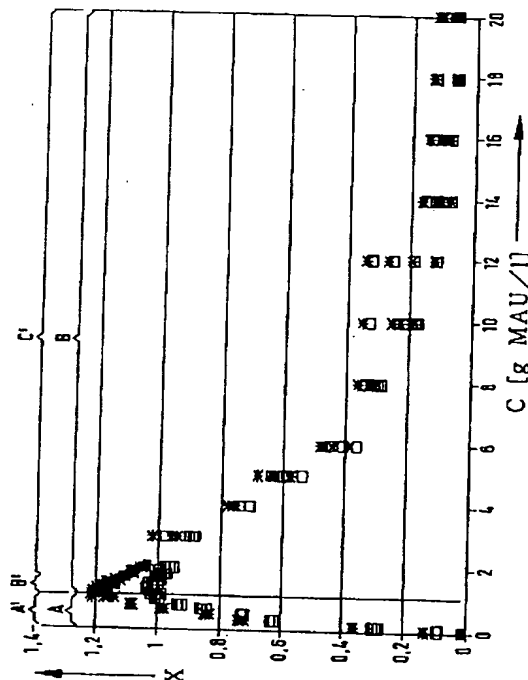
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 医学的試料中の成分濃度の解析的な測定方法

(57)【要約】

【目的】 医学的試料中の成分の濃度を分析する際、処理段階を加えることなく、広範囲の異なる試験に関する分析を可能とする。

【構成】 医学的試料中の成分濃度の解析的な測定方法であって、試薬との試料の反応が測定量Sにおいて時間依存性の変化S(t)となり、濃度CがS(t)から導出される入力変数Xと評価曲線 $C=f(X)$ によって相関すること、同じ入力変数Xの値が検量曲線の2つ以上のサブセクションにおいて異なる濃度Cの値に対応するように、検量曲線 $X=f^{-1}(C)$ が単調ではなく、とりうるXの値の1つ以上の部分について評価曲線があいまいであること、および、入力変数Xをサブセクションのうちの1つに指定し、それによって特定の濃度Cとあいまいでない相関がえられるような操作の段階が行なわれることを特徴とする測定方法。



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 医学的試料中の成分濃度の解析的な測定方法であって、試薬との試料の反応が測定量 $S$ において時間依存性の変化 $S(t)$ となり、濃度 $C$ が $S(t)$ から導出される入力変数 $X$ と、評価曲線 $C=f(X)$ にしたがって相関すること、同じ入力変数 $X$ の値が検量曲線の2つ以上のサブセクションにおいて異なる濃度 $C$ の値に対応するように、検量曲線 $X=f^{-1}(C)$ が単調でなく、とりうる $X$ の値の1つ以上の部分について評価曲線があいまいであること、および入力変数 $X$ をサブセクションのうちの1つに指定し、それによって特定の濃度 $C$ とのあいまいでない相関がえられるように、つぎの段階：

a. トレーニング操作において、識別アルゴリズムがつぎの段階：

a. a  $S(t)$  が検量曲線 $X=f^{-1}(C)$ の2つのサブセクションに存在する既知の濃度 $C_j=C_1\cdots C_m$ の数のキャリブレーターにもとづいて測定されること、

a. b  $S(t)$  の測定値から、ディスクリミネーターのセットをあらかじめ決められたディスクリミネーター生成方法にしたがって生成させること、

a. c ディスクリミネーターのセットから、多変量統計の手法によってキャリブレーターの濃度 $C_j=C_1\cdots C_m$ それぞれについてスコアが計算されること、および

a. d キャリブレーターの濃度 $C_j=C_1\cdots C_m$ についてのスコアが境界スコアによって別のサブセットに分けられうるかどうかを調べ、ここで濃度が正確に検量曲線のサブセクションに指定されるようになることをもって1回以上行なわれる段階、

b. トレーニング操作において、a. aからa. dまでの段階を含む識別アルゴリズムが、実際の目的に充分的確なサブセクションの分離をa. dの段階において可能にするような効果的な識別アルゴリズムを確立するために、様々な生成方法によって $S(t)$ の測定から生成した異なるディスクリミネーターのセットをもっておよび／または異なる多変量統計の手法をもって繰り返される段階および

c. 解析操作において

c. a  $S(t)$  が分析されるべき試料から測定されること、

c. b  $S(t)$  から、解析スコアが前記効果的な識別アルゴリズムにしたがって計算されること、

c. c 解析スコアが境界スコアと比較されること、および

c. d 入力変数 $X$ および入力変数 $X$ から濃度 $C$ が決定され、 $X$ の値が解析スコアを境界スコアと比較することによって検量曲線 $X=f^{-1}(C)$ のサブセクションのうちの1つに指定されるようになることが行なわれる段階

が行なわれることを特徴とする測定方法。

【請求項2】  $S(t)$  が不連続な測定時間 $t_1\cdots t_n$ にa. aおよびc. aの段階において不連続的に測定される請求項1記載の方法。

【請求項3】 c. aの段階における測定時間が、それぞれのばあい、反応開始時間と関連したa. aの段階における測定時間と一致する請求項2記載の方法。

【請求項4】 測定時間 $t_1\cdots t_n$ が0.5秒以上の平均の時間間隔を有する請求項2または3記載の方法。

【請求項5】 ディスクリミネーターのセットが特定の測定時間において $S(t)$ 曲線の傾き、曲率および／または粗さを包含する請求項1、2、3または4記載の方法。

【請求項6】 多変量統計の手法が判別分析の手法である請求項1、2、3、4または5記載の方法。

【請求項7】 反応が生物学的親和性を示す2つの結合パートナーの特異的な結合反応を包含する請求項1、2、3、4、5または6記載の方法。

【請求項8】 測定量 $S$ が濁度測定の結果である請求項7記載の方法。

【請求項9】 生物学的親和性を示す結合パートナーのうちの1つが免疫沈降反応を増加させる多機能抗体キャリアーである請求項8記載の方法。

【請求項10】 検量曲線が2つより多いサブセクション( $A^-$ 、 $B^-$ 、 $C^-$ )に分けられ、トレーニング操作が、効果的な識別アルゴリズムをそれぞれのばあいにおいて確立するように、サブセクションのそれぞれの対の組み合わせ( $A^-$ 、 $B^-$ ;  $A^-$ 、 $C^-$ ;  $B^-$ 、 $C^-$ )について別々に行なわれ、および、解析操作においては、測定された入力変数 $X$ がサブセクション $A^-$ 、 $B^-$ 、 $C^-$ に指定されるように、前記効果的な識別アルゴリズムがc. aの段階によって測定されたそれぞれの時間依存性の変化 $S(t)$ にそれぞれ適用される請求項1、2、3、4、5、6、7、8または9記載の方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】本発明は医学的試料中の成分濃度 $C$ の解析的な測定方法に関するものであり、試薬との試料の反応が測定量 $S$ において時間依存性の変化 $S(t)$ （「カイネティック(kinetic)」）となり、濃度 $C$ が $S(t)$ から導出される入力変数(input variable) $X$ と評価曲線(evaluation curve) $C=f(X)$ にしたがって相関すること、および同じ入力変数 $X$ の値が検量曲線(calibration curve)の2つ以上のサブセクション(sub-section)において異なる濃度 $C$ の値に対応するように、評価曲線 $C=f(X)$ の逆の検量曲線 $X=f^{-1}(C)$ が単調でなく、とりうる $X$ の値の1つ以上の部分について評価曲線があいまい(ambiguous)であるものに関する。

## 【0002】

【従来の技術】化学的な分析において、とくに血液および尿などの体液の分析に関しては、生物学的親和性を示す2つの結合パートナーの特異的な結合反応にもとづく方法が通常用いられている。とくに免疫学的な相互作用、すなわち一方が抗原またはハプテンであり、もう一方が抗体である相互作用は、この意味では特異的な結合反応である。ほかの例としては、レクチン-糖、およびビオチン-ストレプトアビジン (streptavidin) の結合反応、または活性物質-受容体の相互作用がある。以下に例として一般性を制限することなく、免疫学的な相互作用をあげる。

【0003】この種の分析方法は、すぐれた特異性および高感度な検出によって特徴づけられる。しかしながら、長いあいだ知られている免疫学的な分析方法に関して、評価曲線  $C = f(X)$  が多くのばあいにおいてあいまいであるという事実の問題があった。この現象はまた「(高用量 (high dose)) フック (hook) 効果」として記載されている。これは不均一および均一ないずれの免疫学的な検出方法でもみられる。

【0004】たとえば、不均一な一段階サンドイッチテスト (one-step sandwich test) のばあい、大過剰の試料抗原を用いると固相に結合した抗体および標識した抗体の両方が飽和状態となる。これにより、標識した抗体の、固相に結合した抗体との結合 (coupling) が減少し、その結果、分析物の濃度が増加するのに伴い測定シグナルは減少する。

【0005】特異的な結合反応にもとづく均一な分析方法の重要な例は、ラテックス粒子、デキストラン、リポソームまたは金属懸濁液などの小粒子との架橋結合または高分子または分子の集合体を形成する反応である。前記集合体が形成されると散乱光の作用が変化するので、適当な物理的測定方法で検出される。濁度による吸光度の測定 (濁度測定) および光散乱の測定 (比濁分析) が通常用いられる。

【0006】そのような試験において、前記のような入力変数  $X$  のあいまいさをひきおこす検量曲線  $X = f^{-1}(C)$  の非単調な形状は、試料抗原が高濃度のばあい、反応に関与する抗体の結合部位がしだいに (increasingly) 抗原で飽和するという事実によって説明できる。その結果、大過剰の抗原を用いると最初の粒子の架橋形成はもはや増加せずむしろ減少し、濁度は減少する。

【0007】「抗原過剰現象」としても記載されているこの効果は、1935年もの以前にハイデルベルガー (Heidelberger) およびケンドール (Kendall) によって認められた。それゆえに非単調な検量曲線はしばしば「ハイデルベルガー曲線」として記載されている。この問題のさらに詳しい議論は、たとえば、欧州特許第0148463号明細書に含まれており、これをここで参照

する。

【0008】この印刷された発行物もまた、ハイデルベルガー曲線のあいまいさの問題に奮闘する既知の方法の詳しい議論を含んでいる。それらの方法の短い要約だけをこの点において示す。

【0009】通常用いられる方法は試料の異なる2つの希釈液を用いる対の測定である。希釈した試料の試験が明らかにより高い濃度を示すならば、測定した試料の濃度は評価曲線の下降部に存在する。そののち、通常、2つの連続した希釈液のそれぞれについて濃度の減少がみられるまで、さらに希釈する。

【0010】濃度が異なるように希釈した試料を調査するかわりに、試料液体をのちに加えることによって試料の濃度を変えることができる。さらに、測定すべき濃度がハイデルベルガー曲線の上昇部、下降部のどちらに存在するかをえられた入力変数から断定するために、最初の反応の終了後抗体を追加して加えることも選択できる。前記の方法のそれぞれの不利な点は高価な追加の処理段階が必要であるということである。それゆえにそれらの方法は標準的な自動分析装置において休みなく用いることはできない。そのうえ追加の測定によって測定時間が増加し、それゆえ、自動分析装置の試料処理量が減少する。

【0011】したがって、実際に現われる分析物のすべての濃度が「妥当な測定範囲」、すなわち、ハイデルベルガー曲線の上昇部に存在するということを、大量の抗体を用いて保証することがしばしば試みられている。しかしながら比較的小さい分析物濃度の範囲において、抗体が高濃度であると、検量曲線  $X = f^{-1}(C)$  は非常に平らな形状となり、その結果、分析精度は低くなる。加えて、試験のコストは大量の抗体によってかなり高くなる。きわめて高濃度で、あるいはきわめて広い範囲の濃度で分析しなければならない分析物のばあい、前記の方法は実際には実行が不可能である。

【0012】ドイツ国特許第2724722号明細書には免疫比濁分析方法が記載されている。この方法は濁度の時間における変化 (カインेटック) の測定にもとづいており、余分な時間をかけずに、測定値を検量曲線の上昇部あるいは下降部にあいまいでなく指定 (assignment) することを意図している。濁度測定の初期に終点の決定が行なわれた。すなわち、濁度をもたらす凝集反応の終わりに漸近的にえられる測定量  $S$  の一定値が入力変数  $X$  として用いられた。ドイツ国特許第2724722号明細書の提出日より数年前、終点決定に要する長い測定時間をカインेटックの測定によって短縮するということが提案された。前記提案は、 $V_{max}$  とみられる測定量  $S$  の最大変化率 ( $dS/dt_{max}$ ) を、定量分析に十分な精度をもって分析物抗原の濃度  $C$  と相関する、入力変数  $X$  として用いることができるという発見にもとづいている。

【0013】しかしながら、前記の関係 $C=f(X)$ もまたあいまいである。ドイツ国特許第2724722号明細書では前記の評価曲線のあいまいさは測定量 $V_{\max}$ の関数(function)によって除去されるということが記載されており、これはそれぞれの過剰の状態によって特徴的に異なる値をとるとされている。とくに、濁度シグナルの最大変化率 $V_{\max}$ が出現するまでの時間、または $V_{\max}(dV/dt)_{\max}=(d^2S/dt^2)_{\max}$ の誘導オーバータイム(derivation over time)が評価曲線のサブセクションの識別に相当であるとされている。しかしながら、この文献には、抗体過剰の曲線のセクションが前記の値の片側にあり、抗原過剰の曲線のセクションがもう片側にあるような個々の時間の値は存在しない(カラム21、61~68行目)ので、個々の濃度値の本来目的とするあいまいでない測定はこの基準では実際は不可能であると記載されている。この問題は座標の変換および新しい変数の導入によって解決されるとされている。この基準では抗原過剰の状態であることがわかれば、試料を希釈して測定を繰り返す。

【0014】これらの不利な点を克服するために、濃度 $C$ 、測定シグナルの最大変化率 $V_{\max}$ 、および反応開始から最大反応速度の出現までの時間 $t_{\max}$ のあいだの関数的な関係(functional relationship)が標準調製品(standard preparation)で経験的に決定されるということ、および $V_{\max}$ および $t_{\max}$ の両方がその試料から測定され、前記入力変数の1つ目から決定される2つの濃度のうちの1つが2つ目の入力変数を用いて選ばれるということが、欧州特許第0148463号明細書において提案されている。

【0015】これら既知の方法では、あいまいな評価曲線 $C=f(X)$ のサブセクションへの確実な指定が、 $S(t)$ から導出される特定の入力変数の追加によって可能であるとされている。その結果、そのような値(quantity)が十分な識別力(potential)をもって見出されるようなばあいにおいてのみこれらの方法は適用される。さらに、これら既知の方法は $S(t)$ 曲線の測定を連続的に行なうか、または少なくとも非常に短い時間間隔で(擬連続的)に行なうかどうかに依存している。これらの方法は、多くの分析装置ではその構造原理ゆえに、比較的時間の間隔が長い不連続な測定時間でのみ、要求される濁度測定または比濁分析の測定を行なうので、実際上可能ではない。これは段階的な回転反応ローター(rotating reaction rotor)を備えた、通常用いられる分析装置にとくに適当である。このばあい、ローターの周囲に並んだ反応装置(reactors)のうちの1つの中の成分の測定は、それが測定位置に位置するときだけ可能となる。

【0016】

【発明が解決しようとする課題】このことをもとに、本発明は、とりうる $X$ の値の1つ以上の部分についてあい

まいな評価曲線 $C=f(X)$ のばあい、高い信頼性をもっておよび試料分析のあいだに処理段階を加えることなく広範囲の異なる試験に関して、分析が可能であるような方法を提供することを目的とする。

【0017】

【課題を解決するための手段】本発明の目的は前記に記載されたような方法を用いたばあいにおいて、入力変数 $X$ をサブセクションのうちの1つに指定し、それによって特定の濃度 $C$ とのあいまいでない相関がえられるようにつぎの段階が行なわれることによって、達成される。

【0018】a. トレーニング操作(training run)において、識別アルゴリズムがつぎの段階:

a. a  $S(t)$ が検量曲線 $X=f^{-1}(C)$ の2つのサブセクションに存在する既知の濃度 $C_j=C_1 \cdots C_m$ の数のキャリブレーター(calibrator)にもとづいて測定されること、

a. b  $S(t)$ の測定値から、ディスクリミネーターのセット(discriminator set)をあらかじめ決められたディスクリミネーター生成(discriminator generation)方法にしたがって生成(generate)させること、

a. c ディスクリミネーターのセットから、多変量統計の手法によってキャリブレーターの濃度 $C_j=C_1 \cdots C_m$ それぞれについてスコア(score)が計算されること、および

a. d キャリブレーターの濃度 $C_j=C_1 \cdots C_m$ についてのスコアが境界スコアによって別のサブセット(subset)に分けられうるかどうかを調べ、ここで濃度が正確に検量曲線のサブセクションに指定されるようになることをもって1回以上行なわれる段階、

b. トレーニング操作において、a. aからa. dまでの段階を含む識別アルゴリズムが、実際の目的に充分的確なサブセクションの分離をa. dの段階において可能にするような効果的な(operative)識別アルゴリズムを確立するために、様々な生成方法によって $S(t)$ の測定から生成した異なるディスクリミネーターのセットをもっておよび/または異なる多変量統計の手法をもって繰り返される段階および

c. 解析操作(analysis run)において

c. a  $S(t)$ が分析されるべき試料から測定されること、

c. b  $S(t)$ から、解析スコアが前記効果的な識別アルゴリズムにしたがって計算されること、

c. c 解析スコアが境界スコアと比較されること、および

c. d 入力変数 $X$ および入力変数 $X$ から濃度 $C$ が決定され、 $X$ の値が解析スコアを境界スコアと比較することによって検量曲線 $X=f^{-1}(C)$ のサブセクションのうちの1つに指定されるようになることが行なわれる段階。

【0019】ディスクリミネーターの生成方法として

は、1つまたはそれ以上のひとつづきの段階において、正確に決められた方法で、選択によっておよびたいいのばあいには特定の測定時間  $t_j$  に測定した測定値  $S(t_j)$  を追加して組み合わせることによって、ディスクリミネーターとして用いるのに適当な数値が導出されるような方法がある。それゆえにもっとも簡素なばあいは、ディスクリミネーター生成方法は、1つの選択段階、すなわち、特定の測定値  $S(t_j)$  を選択することのみからなる。しかしながら、たいいのばあいは、ディスクリミネーターは決められた数学的な方法にしたがっていくつかの  $S(t_j)$  の値から導出される。これは導出方法として以下にも記す。

【0020】a. a から a. d までの段階を有する識別アルゴリズムは、実際の目的に充分的確なサブセクションの分離を可能にするような効果的な識別アルゴリズムを確立するときまで繰り返される。このことは、入力変数  $X$  を検量曲線  $X = f^{-1}(C)$  のサブセクションのうちの1つに、充分確実に、すなわち、特定の医学分析的な目的のために指定できることを意味すると理解されるべきである。前記の指定は測定装置にかかわる支出の追加もなく、とくにピベッティングの段階（試料の希釈または試薬の濃度の増加）を加えることもなく行なわれるものである。数学的な意味 (term) においてサブセクションに100%正確に分離することは、しばしばこの目的には必要ではない。とくに検量曲線  $X = f^{-1}(C)$  の最大値付近では、測定値  $X$  がどのサブセクションに指定されるべきかは、しばしば臨床的には関係がない。通常最大値は平均濃度の範囲にある。前記平均濃度の範囲は測定されるべき分析物の標準的な値に相当し、このため臨床的な意味においてあまり関係がない。

【0021】驚くべきことに、本発明によって評価曲線のサブセクションのうちの1つに、非常に高い信頼性をもって指定することが、少数の不連続な測定値  $S(t_1 \cdots t_n)$  で達成されるということを発見した。実際には測定値  $S(t_j)$  はとくに測定配置 (arrangement) のノイズによって生ずる統計的なエラー率 (error rate) によってそれぞれ不可避免的に影響をうけるので、このことはとくに驚くべきことである。前記測定値を選択することによっておおよそエラーの影響をうけた前記測定値を相互に関連させる導出方法を用いて、あいまいでなくサブセクションを分離する境界スコアを多変量統計の手法を応用して決定するようなディスクリミネーターのセットが導出されうるということは、それゆえ予期できなかった。本発明による方法自身が、選択 (selecting) ディスクリミネーターおよび前記ディスクリミネーターを導く導出方法を、選択する、という事実が大いにこの結果に寄与している。

【0022】すなわち本発明は、医学的試料中の成分濃度の解析的な測定方法であって、試薬との試料の反応が測定量  $S$  において時間依存性の変化  $S(t)$  となり、濃

度  $C$  が  $S(t)$  から導出される入力変数  $X$  と、評価曲線  $C = f(X)$  にしたがって相関すること、同じ入力変数  $X$  の値が検量曲線の2つ以上のサブセクションにおいて異なる濃度  $C$  の値に対応するように、検量曲線  $X = f^{-1}(C)$  が単調でなく、とりうる  $X$  の値の1つ以上の部分について評価曲線があいまいであること、および入力変数  $X$  をサブセクションのうちの1つに指定し、それによって特定の濃度  $C$  とのあいまいでない相関がえられるように、つぎの段階：

a. トレーニング操作において、識別アルゴリズムがつぎの段階：

a. a  $S(t)$  が検量曲線  $X = f^{-1}(C)$  の2つのサブセクションに存在する既知の濃度  $C_j = C_1 \cdots C_m$  の数個のキャリブレーターにもとづいて測定されること、

a. b  $S(t)$  の測定値から、ディスクリミネーターのセットをあらかじめ決められたディスクリミネーター生成方法にしたがって生成させること、

a. c ディスクリミネーターのセットから、多変量統計の手法によってキャリブレーターの濃度  $C_j = C_1 \cdots C_m$  それぞれについてスコアが計算されること、および

a. d キャリブレーターの濃度  $C_j = C_1 \cdots C_m$  についてのスコアが境界スコアによって別のサブセットに分けられうるかどうかを調べ、ここで濃度が正確に検量曲線のサブセクションに指定されるようになることをもって1回以上行なわれる段階、

b. トレーニング操作において、a. a から a. d までの段階を含む識別アルゴリズムが、実際の目的に充分的確なサブセクションの分離を a. d の段階において可能にするような効果的な識別アルゴリズムを確立するために、様々な生成方法によって  $S(t)$  の測定から生成した異なるディスクリミネーターのセットをもっておよび/または異なる多変量統計の手法をもって繰り返される段階および

c. 解析操作において

c. a  $S(t)$  が分析されるべき試料から測定されること、

c. b  $S(t)$  から、解析スコアが前記効果的な識別アルゴリズムにしたがって計算されること、

c. c 解析スコアが境界スコアと比較されること、および

c. d 入力変数  $X$  および入力変数  $X$  から濃度  $C$  が決定され、 $X$  の値が解析スコアを境界スコアと比較することによって検量曲線  $X = f^{-1}(C)$  のサブセクションのうちの1つに指定されるようになることが行なわれる段階が行なわれることを特徴とする測定方法に関する。

【0023】さらに本発明の方法では、 $S(t)$  が不連続な測定時間  $t_1 \cdots t_n$  に a. a および c. a の段階において不連続的に測定されること、c. a の段階に

おける測定時間が、それぞれのばあい、反応開始時間と関連した  $a$ 。  $a$  の段階における測定時間と一致すること、測定時間  $t_1 \cdots t_n$  が 0.5 秒以上の平均の時間間隔を有すること、ディスクリミネーターのセットが特定の測定時間において  $S(t)$  曲線の傾き、曲率および/または粗さ (roughness) を包含すること、および多変量統計の手法が判別分析の手法であることが好ましい。

【0024】また本発明の分析方法では、反応が生物学的親和性を示す 2 つの結合パートナーの特異的な結合反応を包含すること、測定量  $S$  が濁度測定の結果であること、および生物学的親和性を示す結合パートナーのうちの 1 つが免疫沈降反応を増加させる多機能抗体キャリアーであることが好ましく、さらに、検量曲線が 2 つより多いサブセクション ( $A'$ 、 $B'$ 、 $C'$ ) に分けられ、トレーニング操作が、効果的な識別アルゴリズムをそれぞれのばあいにおいて確立するように、サブセクションのそれぞれの対の組み合わせ ( $A'$ 、 $B'$ ； $A'$ 、 $C'$ ； $B'$ 、 $C'$ ) について別々に行なわれ、および、解析操作においては、測定された入力変数  $X$  がサブセクション  $A'$ 、 $B'$ 、 $C'$  に指定されるように、前記効果的な識別アルゴリズムが  $c$ 。  $a$  の段階によって測定されたそれぞれの時間依存性の変化  $S(t)$  にそれぞれ適用される方法が好ましい。

【0025】

【実施例】以下に図および実施例をあげて本発明を詳しく説明するが、本発明はこれらの例示に限定されるものではない。

【0026】図 1 は濁度試験における種々の分析物濃度  $C$  についての吸光度  $S$  のそれぞれのカイネティックのグラフ、図 2 は免疫化学的濁度試験の非単調な検量曲線  $X = f^{-1}(C)$  のグラフ、図 3 は本発明にもとづく、検量曲線  $X = f^{-1}(C)$  の 2 つのサブセクションへの指定に関するスコアの分布のグラフ、および図 4 は本発明にもとづく、検量曲線  $X = f^{-1}(C)$  の 3 つのサブセクションへの指定に関するスコアの分布のグラフを示す。

【0027】図 1 においては、吸光度  $S$  の曲線は、 $C_1$  が最も低い濃度、および  $C_5$  が最も高い濃度に相当する異なる 5 つの濃度  $C_1 \cdots C_5$  について、時間  $t$  (秒) に対して任意の単位 (arbitrary units) でプロットされている。

【0028】前記記載の 2 つの反応機構 (不均一な一段階のサンドイッチ試験および免疫濁度測定試験) について、およびまた、ほかの 2 つの結合パートナーと結合しうる 3 つ目の多価結合パートナーを用いた 2 つの結合パートナー (たとえば抗体) の架橋形成 (bridge formation) または結合を包含する特異的な結合反応がおこるようなその他の試験の原理についても、前記の全体にわたる曲線は特徴的である。(分析物の濃度を除いてはすべて一定の) あらかじめ決められた割合の反応物をもっ

て始まり、上昇相ののち漸的に測定値がプラトーになる反応が包含される。プラトー値および反応の時間プロットはたとえば、「抗原架橋 (bridge) 複合体」の数による前記の不均一な試験のばあい、および、抗原-抗体架橋結合 (cross-linkage) の数による濁度測定試験のばあいなどに測定される。

【0029】分析物の濃度を除くすべての因子が一定に保持されるという事実によって、測定量  $S$  のカイネティック  $S(t)$  は分析物の濃度  $C$  に特有である。入力変数  $X$  は通常、評価曲線  $C = f(X)$  によって濃度  $C$  へ変換されるために、測定されたカイネティックから導出される。検量曲線  $X = f^{-1}(C)$  は分析に関連する濃度の範囲全体にわたって分布するキャリブレーター (既知の濃度の分析物を含有する標準試料) にもとづく測定によって決定される。

【0030】実際、濃度  $C$  と相関する入力変数  $X$  が、測定された曲線  $S(t)$  の形状 (すなわち、反応のカイネティック) からどのように導出されるかは、本発明には重要ではない。入力変数  $X$  の概念には測定されたカイネティックから決定しうるあらゆる値 (quantity) が含まれており、濃度  $C$  と相関する。これが個々のばあいにおいてどのようにおこるかはそれぞれの分析、および測定機器の特徴による。分析の精度をあげるため、入力変数  $X$  は濃度の関数としてできるかぎり著しく変えるべきである。物理的に判断できる量 (たとえば最大の濁度に相当する終点の測定シグナルなど) は含まなくてもよい。

【0031】濁度測定における入力変数  $X$  としては、とくに、説明したように濁度の終点の値、またはプラトーの値、および最大変化率  $V_{max}$  を通常用いる。

【0032】図 1 において  $C_1$  は最も低い濃度、 $C_5$  は最も高い濃度に相当する。たとえば、約 300 秒後に達する終点の値  $X_1 \cdots X_5$  は単調に濃度とともに変化するのではなく、 $X_1$  から  $X_2$  まで上昇し、その後  $X_5$  まで減少するというのが見られる。

【0033】これから、ハイデルベルガー曲線の形で図 2 に示される検量曲線  $X = f^{-1}(C)$  の非単調な形状がえられる。2 つの異なる試薬のバッチを用いた測定の結果が示されており、各バッチについてはいくつかの測定が行なわれている。図 2 中、クロス (\*) は試験試薬の 1 つ目のバッチを、四角 (□) は 2 つ目のバッチを意味する。このようにして、測定から測定までの、およびバッチからバッチまでの、測定値のばらつきが明らかになる。 $X$  は任意の単位としている。濃度  $C$  は尿中のアルブミン (「MAU」) に対する免疫化学的な試験を示す。たとえば、測定値  $X = 0.8$  は、 $C$  の値が検量曲線の上昇部または下降部のどちらに存在するかによって、0.5 または 3 g/l の濃度に相当する。示された曲線の形状と逆の評価曲線  $C = f(X)$  はあいまいである。それゆえに、 $S(t)$  から導出される入力変数  $X$  をあいまい

でなく、検量曲線のAまたはBの2つのサブセクションのうちの1つに指定し、それによって特定の濃度Cとのあいまいでない相関をえることが可能であるということが、分析結果のあいまいでない説明(statement)から予想される。このためにつぎの手順が本発明によって採用される。

【0034】まずトレーニング操作を行なう。その操作は、とくにそれぞれの解析のパラメーターに、できれば特定の試薬のバッチに適合させた(g geared)識別アルゴリズムを、キャリブレーターにもとづいて測定されたカイネティックS(t)から展開(develop)するのに用いられる。識別アルゴリズムはディスクリミネーターのセットおよび多変量統計の手法を含んでおり、これにより測定されたカイネティックS(t)が検量曲線のサブセクションのうちの1つにあいまいでなく指定される。

【0035】このためにまず、S(t)が、検量曲線の両方のサブセクションに存在する既知の濃度の複数のキャリブレーターにもとづいて測定される。そのようなキャリブレーターの測定は、かなり少数、たとえば検量曲線の各サブセクションA、Bについてそれぞれ6つ、の濃度の測定で、実際には充分であることがわかった。たとえば、図1で示されるような12のカイネティックがえられるが、それぞれのカイネティックに対する正しい

$$(1.1) \quad K(i) = \frac{\alpha_{i+1} - \alpha_i}{T_i}$$

$$(1.2) \quad \alpha_i = \text{atan} \frac{(S_{i+1} - S_i)}{t_{i+1} - t_i}$$

$$(1.3) \quad T_i = \text{SQRT} [(S_{i+1} - S_i)^2 + (t_{i+1} - t_i)^2]$$

【0040】ここでSQRTとは平方根を表わす。

【0041】粗さはとくに特定の解析の範囲(area)においてディスクリミネーターとして有益であることがわかった、統計的なばらつきのパラメーターである。それは

【0042】

【数2】

$$(2.1) \quad R = \frac{1}{n} \sum_{i=j+1}^{j+n} d_i$$

$$(2.2) \quad d_i = \frac{(S_i - S_{i-1})}{S_i}$$

【0043】で定義される。

【0044】これらに加えて、そのほかの多数のディスクリミネーターもまた本発明において用いられる。それぞれのばあいにおいて、この目的でディスクリミネー

濃度Cは既知であり、それゆえにまた、測定されたカイネティックが検量曲線 $X = f^{-1}(C)$ のサブセクションA、Bのどちらに指定されるかが明らかである。

【0036】測定されたカイネティックS(t)から、ディスクリミネーター生成方法として記載される特定の定義された方法によって、それぞれのばあいに、ディスクリミネーターのセットが決定される。本発明においては、たとえば、特定の測定時間での吸光度の値、傾き、曲率および粗さの値などがディスクリミネーターとしてうまく用いられている。S(t)が連続的でなく、むしろ不連続的な測定時間 $t_1 \cdots t_n$ において決定されるばあいには、前記ディスクリミネーターはたとえばつぎのように計算できる。

【0037】測定点i(測定時間 $t_i$ )での吸光度の値 $S_i$ は直接採用されうる。ディスクリミネーター生成方法の概念には、記載したように、測定値S(t)が特定の時間に対して選ばれ、そのまま採用されるばあいも含まれる。

【0038】測定点iにおける曲率 $K_i$ は(時間 $t_i$ および $t_{i+1}$ で測定される)隣接した2つの個々の測定点 $S_i$ および $S_{i+1}$ からつぎのように計算される。

【0039】

【数1】

—は、特定のディスクリミネーター生成方法を用いたとき特定の測定されたカイネティックからディスクリミネーターの同じ値がえられるように、定義されたディスクリミネーター生成方法によって明瞭に確立される、測定されたカイネティックから導出される変数である。

【0045】本質的には、カイネティックS(t)から導出されないほかの量、たとえば、機器の設置または周囲の状況に関する測定値などは、補助的なディスクリミネーターとして追加して用いられる。

【0046】ディスクリミネーターはそれぞれ濃度の値 $C_j$ および測定時間 $t_j$ に指定される(is assigned to)。その結果、ディスクリミネーターのセットは2つの独立変数Cおよびtに従属している。数個の変数に従属するような多次元の値の行列(matrix)は既知の多変量統計の手法によって多次元空間から1次元空間へうつされる。本発明のばあい、多変量統計の手法はカイネティックのディスクリミネーターから(すなわち、キャリブレーターにもとづいて測定されるS(t)曲線が

ら決定されるディスクリミネーターから)、数値、いわゆるスコア (score) を計算するのに用いられる。キャリブレーターそれぞれの濃度がハイデルベルガー曲線のどちらのサブセクションに存在するかは既知であるので、計算されたスコアはそれぞれハイデルベルガー曲線のサブセクションAまたはBのうちの1つに指定される。

【0047】多変量統計の方法に関するさらに詳しい情報は関連する文献からえることができる。たとえばつぎの出版物を参考文献とする。

【0048】エル・ファーマイヤー (L. Fahrmeir) およびエー・ハメルレ (A. Hamerle) による、「マルチバリエート スタティスティシェ フェルファehren (Multivariate statistische Verfahren)」、バルター デ グルイター (Walter de Gruyter)、ニューヨーク、1984、およびエスエーエス/エスティーエーティーユーザーズ ガイド (SAS/STAT-User's Guide)、リリース 6.03 (Release 6.03)、エスエーエスインスティチュート インク。 (SAS-Institute Inc.)。

【0049】つぎに、ハイデルベルガー曲線の上昇部のサブセクションA上の濃度の値に相当するスコアがすべて境界値の片側に存在し (たとえば、前記境界値より小さい)、一方、ハイデルベルガー曲線の下降部のサブセクションB上の濃度の値に相当するスコアが前記境界値のもう片側に存在する (すなわち、たとえば、前記境界値より大きい) ように、すべてのキャリブレーターの計算されたスコアが明瞭に2つのサブセットに分けられるかどうか調べられる。前記の分割を可能にする境界値が境界スコアとして記載される。境界スコアはスコアがカイネティックから計算される方法と同じ多変量統計の手法によって通常、計算される。

【0050】一般に、最初に試験されたディスクリミネーターのセットにもとづく境界スコアを用いて実際の目的に適した分離を行なうのは、不可能であるということが前記の調査 (check) のあいだにわかっている。トレーニング段階で、効果的なディスクリミネーターのセットが前記ステップの繰り返しによって決定されるということが、本発明の重要な要素とみなされる。そのうえ、ディスクリミネーターを導くディスクリミネーター生成方法の変化が、まったく確率論的に (stochastically) おこる。すなわち、システムには、目的とする結果 (医学的な分析に要求される境界スコアによるスコアの充分な分離程度) がえられるまで引き続いて置き換えられる、ディスクリミネーター生成方法の選択が含まれる。あらかじめ決定された経験的な値にもとづいて前記トレーニング段階に慎重に介入する (intervene) ことも当然可能である。

【0051】全体的にトレーニング操作は、それぞれのばあいにおいて識別アルゴリズムが行なわれる、連続的に繰り返される複数のセクションからなる。識別アルゴ

リズムはディスクリミネーターを決定するためのディスクリミネーター生成方法のセット、およびディスクリミネーターの多次元空間を1次元のスコアへ結像 (imaging) させることを可能にする、定義された多変量統計の手法からなる。

【0052】さらに、ディスクリミネーター生成方法に加えて、用いられる多変量統計の手法もまた変えることができる。これはまた原則として人の介入なしに行なわれ、このシステムにおいては、トレーニング操作において同じディスクリミネーターのセットを用いてさもなければ異なるディスクリミネーターのセットを用いてそれぞれ試験が行なわれる、様々な多変量統計の手法が、実施される。特定の多変量統計の手法を特定の解析に適切であるようにする経験的な値を実際にえることが可能であるということを、本発明の試験は示している。これらのばあいにおいて、前記の証明された多変量統計の手法が特定の分析物の測定のためのシステムについては意図的にプリセット (pre-set) され、ディスクリミネーター生成方法だけをトレーニング操作において変化させる。しかしながら、これは不可欠というわけではない。特定のディスクリミネーターのセットを採用すること、およびトレーニング操作において異なる多変量統計の手法と組みあわせて試験することが有利な状況もまたありうる。

【0053】実際の目的のために (説明された意味で) 充分確実に、評価曲線のサブセクションに指定された2つのサブセットに、スコアを目的どおりに分離させる識別アルゴリズムが、効果的な識別アルゴリズムとして記載されている。

【0054】個々のばあいの条件に依存して、効果的な識別アルゴリズムの決定は、実際には、解析的測定に用いられる試薬キットの製造者によって集中的に (centrally)、またはそれぞれの自動分析装置において局所的に行なわれる。

【0055】(a) 製造者による集中的な決定には、非常にすぐれたコンピューターの能力が用いられるという利点がある。最適化された識別アルゴリズムが試薬キットの製造バッチに依存しないならば、情報を解析装置へと、たとえばディスクセットにより、1回データ転送すれば充分である。しかしながら、同一の最適化された識別アルゴリズムを異なるバッチに用いることができないほど、異なる製造バッチの試薬が変化するならば、最適化された識別アルゴリズムがそれぞれのバッチに対して別々に決定され、テストキットの包装 (packing) とともに適当な記憶媒体で臨床検査室に送られるということが望ましい。集中的な決定を用いると、関係のある解析的測定のすべての測定範囲にわたるキャリブレーターを解析装置で測定する必要はない。

【0056】(b) 最適化されたディスクリミネーターのセットの決定は検量曲線の決定と並行して装置上で行



なわれる。カイネティック  $S(t)$  の測定は標準的な検量曲線の測定とは原則としては異ならない。しかしながら、キャリブレーターがほとんどの測定範囲にわたっていること、および充分な数のキャリブレーター濃度が常にハイデルベルガー曲線の両方のサブセクションに存在することが必要となる。前記の条件を満たす、すなわち、完全な非線形 (non-linear) の検量曲線  $X = f^{-1}(C)$  の測定を支持する装置のばあいには、ハードウェアの要素または測定設備の追加をほとんど必要としない。最適化された検量 (calibration) アルゴリズムは、そのような装置に通常含まれるコンピューターを用いて、検量のあいだに測定されるカイネティック  $S(t)$  から決定されうる。

【0057】前記の2つの変形 (a) および (b) からなる混合形態もまた、当然可能である。

【0058】解析操作では最適化された識別アルゴリズムはつぎのように用いられる。

【0059】カイネティック  $S(t)$  が分析されるべき試料について測定される。測定が不連続な測定時間  $t_i$  に行なわれるならば、それぞれのばあいには反応開始から計算される測定時間は、解析操作において、トレーニング操作で用いられた測定時間と一致すべきである。

【0060】効果的な識別アルゴリズムはカイネティックに適用される。すなわち、ディスクリミネーターが同じディスクリミネーター生成方法によって生成し、解析スコアが同じ多変量統計の手法を用いてディスクリミネーターから計算される。カイネティック  $S(t)$  から導出される入力変数  $X$  の、検量曲線  $X = f^{-1}(C)$  のサブセクションのうちの1つへの指定は、解析スコアを境界スコアと単に比較することによって行なわれる。

【0061】多変量統計の手法のうち、判別分析の手法がとくに好ましい。

【0062】一般に、判別分析は  $p$ -基準 (criteria) ( $p$ -次元の基準ベクトル) にもとづいてできるだけあまいでなく対象を群に指定するのに用いられる。それぞれの個々の対象の群要素は明確に決定され、照合することができる。既知の群要素、このばあいカイネティック、を有する対象のセットから始まり、最も好ましい (best possible) 群の分離をもたらす1次元空間への投影 (projection) が  $p$ -次元空間において決定される。

【0063】図3はたとえば、95%よりもすぐれた識別性を有する2つの群  $G_1$  および  $G_2$  のカイネティックのスコアについての1次元度数分布を示している。それゆえカイネティックの識別はここでは100%の成功ではない。図の右に示される群  $G_1$  の少しの部分が横座標の負の値の範囲にスコアがあるのがわかる。このばあい、識別アルゴリズムにより数学的な意味におけるカイネティックの完全な分離は行なわれないが、数個の誤った指定がずっと前に説明したような理由で医学分析的な

結果には実際的に重要ではないならば、そのような結果はしばしば、実際の目的にまったく充分である。

【0064】本発明において様々な判別分析の手法が識別にうまく利用されている。その手法には、ノンパラメトリックな手法、インターアリアカーネルエスティメーター (inter alia kernel estimator) および最近傍法 (nearest neighbour techniques) とともに、古典的な線形および2次判別分析がある。カーネルエスティメーターのばあいには、一様な、標準のおよびエパネクニコフ (Epanechnikow) のカーネルタイプが適切であることがわかった。

【0065】数学的な文献にはそのような方法が詳しく記載されている。例として多変量統計の手法に関する前記出版物、およびビー ダブリュー シルバーマン (B. W. Silverman)、「デンシティ エスティメーション フォー スタティスティクス アンド データ アナリシス (Density Estimation for Statistics and Data Analysis)」、チャップマンアンド ホール (Chapman & Hall)、ロンドン、ニューヨーク、1986が参考にできる。

【0066】エラー率の評価には、再代入法 (resubstitution) および公差検証法が適していることがわかった。再代入法のばあいには誤った指定の数が、問題となるカイネティックのセットについて決定される。公差検証法では、解析は  $(n-1)$  個のカイネティックを用いて行なわれ、 $n$  番目のカイネティックの指定が正しく行なわれているかどうか調べられる。そののち置き換えが行なわれ、不良率 (failure rate) が決定される。

【0067】以下に実施例をあげて本発明を説明するが、本発明はもとよりこれらに限られるものではない。

#### 【0068】実施例1

尿中のアルブミン濃度を (微タンパク尿の診断として) 測定するために、伝統的な濁度測定の濁度試験を行なった (試薬はチナークアント (商標)、ミクロアルブミンウリエ (Tina-quant, Mikroalbuminurie)、ベーリンガー マンハイム (Boehringer Mannheim) (ドイツ) 社製の名称で市販されているものを用いた)。分析は  $0 \sim 10000 \text{ mg MAU/l}$  の濃度範囲にわたった。2つの異なる試薬バッチを用いた。それらの試薬バッチはとくに抗体の生成バッチによって区別されるものであった。

【0069】光度測定が12秒サイクル、すなわち、1分あたり5回の測定速度で行なわれるヒタチ717 (商標) 分析装置を測定に用いた。それぞれの試料について1つのカイネティックにおいて12秒後に最初の測定が行なわれ、その後、前記の測定速度でさらに測定が行なわれた。その際、装置はそれぞれの測定点で3回の測定を行ない、つぎの処理のために平均測定値 (中央値) を用いた。

【0070】入力変数  $X$  として、300秒後の吸光度と

12秒後の吸光度との差： $X = S(300\text{秒}) - S(12\text{秒})$ を用いた。

【0071】このようにしてそれぞれの抗体のバッチを用いた1組目の測定においてそれぞれ12個の既知の濃度(0、250、500、1000、1500、2000、3000、4000、5000、6000、8000、10000 mg MAU/dl)で5つの試料を測定した。2組目の測定では、42個の既知の濃度(0、100、200、・・・、1000、1250、1500、・・・、4750、5000、6000、・・・、10000 mg MAU/dl)で試料をそれぞれ3回測定した。1組目の測定では5つのXの値が、12個のCの値それぞれについて決定され、2組目の測定では3つのCの値が、42個のCの値それぞれについて決定された。これは非単調なハイデルベルガー曲線として図2に示されるように表わされる。

【0072】測定したカイネティックにもとづいて、効果的な識別アルゴリズムがトレーニング操作で記載された方法で決定された。さらに測定時間のペア $t_1/t_2$ 、 $t_2/t_3$ 、 $t_3/t_4$ 、 $t_4/t_5$ および $t_5/t_6$ のためのディスクリミネーターとして、2番目の試薬を入れたあと(すなわち、混濁反応の開始のあと)の5番目の吸光度の値とともに、5つの曲率を決定した(式1、1から1.3にしたがってそれぞれ計算した)。これから、スコアおよび境界スコアを、正準判別分析方法であるSAS統計パッケージ(エスエーエスインスティテュート インク、キャリー エヌ シー (SAS Institute Inc., Cary, N.C.) (アメリカ)社製)を用いて計算した。

【0073】測定結果の指定の精度を調べるために、まず最初にトレーニング操作がバッチ1のカイネティックを用いて行なわれた。すなわち、ディスクリミネーターの解析方法および境界スコアの係数が、記載されているようなトレーニング操作において決定された。こうしてえられた係数を用いて、試薬バッチ2を用いて測定されたすべての反応カイネティックのスコアが計算された。それぞれの反応カイネティックの、ハイデルベルガー曲線のセクションAまたはセクションBへの指定は境界スコアとの関係から決定された。同じ方法を逆に繰り返し、バッチ2について測定されたカイネティックをトレーニング操作に用い、バッチ1からカイネティックを解析した。

【0074】いずれのばあいにおいても100%の識別が行なわれた。

【0075】両方のバッチについての測定結果の選ばれたサブセットが、トレーニング操作のためのトレーニングセットとして用いられたばあい、同じように有利な結果がえられた。とくに、トレーニング操作は1組目の測定の12個の濃度をもってのみ行ない、2組目の測定の42個の濃度が正しく指定された。

【0076】実施例2

ラテックス強化免疫濁度測定試験方法(チナークアント(商標)、フェリチン(Tina-quant, Ferritin)、ペーリンガー マンハイム(ドイツ)社製)を用いて、既知の濃度の血清試料中のフェリチンを測定した。異なる2つの試薬バッチを用いて、0~6000 ng フェリチン/mlの範囲で、22個の異なる濃度をそれぞれ測定した。1つ目のバッチについて6回(fold)の測定を、2つ目のバッチに対して10回の測定を行なった。このばあい、効果的な識別アルゴリズムが見出されるときまで、ディスクリミネーターおよび多変量統計の手法が記載されたようなトレーニング操作によって最適化された。たとえば、つぎの量がディスクリミネーターとして適切であることがわかった。 $t_2/t_3$ 、 $t_3/t_4$ 、 $t_4/t_5$  および5番目から25番目までの吸光度(それぞれにおいて、2番目の試薬を加えたあと1分あたり5回の測定割合で測定したもの)。選ばれた手法は前記SAS統計プログラムパッケージのノンパラメトリックな判別の手法であった。

【0077】全部で22個の濃度にわたる1番目の試験におけるトレーニング操作のためのトレーニングセットとして、トレーニング操作のための6つのカイネティックのうち3つを用いた。2番目の試験では濃度の全範囲を含むように、22個の濃度から11個のみを選んでトレーニング操作に用いた。

【0078】残りのカイネティックをすべて解析操作のための試料として用いた(応用セット)。トレーニング操作で決定したDKA方法の係数を用いてスコアを計算し、反応カイネティックの、ハイデルベルガー曲線のセクションAまたはBへの指定を境界スコアとの関係から決定した。98%の正しい指定が行なわれた。しかしながら誤った指定はいずれも前記の意味で臨床的に関係なかった。臨床的に関係する誤った指定のみを考慮すれば、100%の正しい指定がもう一度行なわれた。

【0079】実施例3

実施例3は実験的に実施例1に相当した。同じディスクリミネーターおよび判別分析の手法を用いた。しかしながら、このばあい、検量曲線は3つのサブセクション(図2中のA'、B'、C')に、すなわち、0~1.1 g MAU/mlの第1セクション、1.1~1.5 g MAU/mlの第2セクション、および1.5~7 g MAU/mlの第3セクションに分割された。ハイデルベルガー曲線の最大値のそれぞれ左および右に比較的小さいサブセクションがわたるように、中央の濃度範囲を選んだ。

【0080】検量曲線が2つより多いサブセクションに分割されるならば、必要とする境界スコアの数が増える。たとえば、サブセクションが3つのばあい、ほかの2つのセクションそれぞれからの中央のセクションの境界を決めるために、たとえば2つの境界スコアが必要と

なる。

【0081】このばあい、正準判別分析は用いられなかったが、そのかわり、カーネル関数 (kernel function) としてガウス (Gauss) 曲線を用いたノンパラメトリックな方法 (SAS統計プログラムパッケージ) が用いられた。吸光度値は3つのサブセクションへ100%正しく指定された。図4はその結果を示すグラフであり、個々の測定濃度についてのスコアが2次元でプロットされている。ここでは第1の濃度の範囲A' についてのスコアを黒丸 (●) で、第2の濃度の範囲B' についてのスコアを白丸 (○) で、第3の濃度の範囲C' についてのスコアを三角 (△) で示している。

【0082】

【発明の効果】本発明の測定方法によって、医学的試料中の成分の濃度を分析する際、信頼性が高かつ、とり

うるXの値の一つ以上の部分についてあいまいな評価曲線  $C = f(X)$  のばあいに、処理段階を加えることなく、広範囲の異なる試験に関する分析が可能となる。

【図面の簡単な説明】

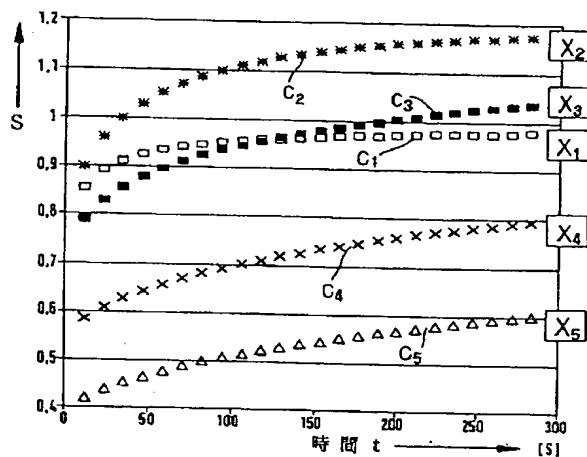
【図1】濁度試験における種々の分析物濃度Cについての吸光度Sのそれぞれのカイネティックのグラフである。

【図2】免疫化学的濁度試験の非単調な検量曲線  $X = f^{-1}(C)$  のグラフである。

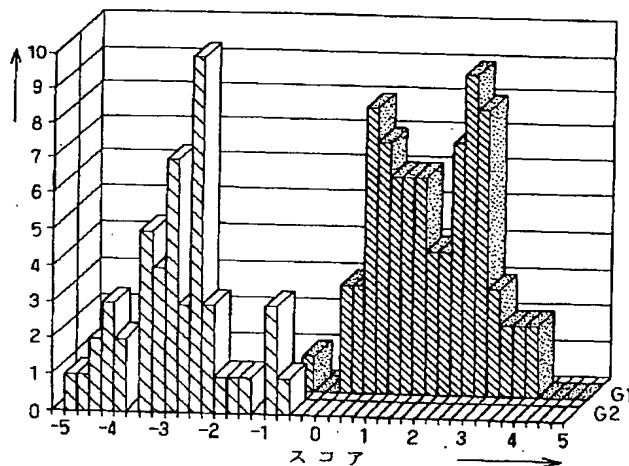
【図3】本発明にもとづく、検量曲線  $X = f^{-1}(C)$  の2つのサブセクションへの指定に関するスコアの分布のグラフである。

【図4】本発明にもとづく、検量曲線  $X = f^{-1}(C)$  の3つのサブセクションへの指定に関するスコアの分布のグラフである。

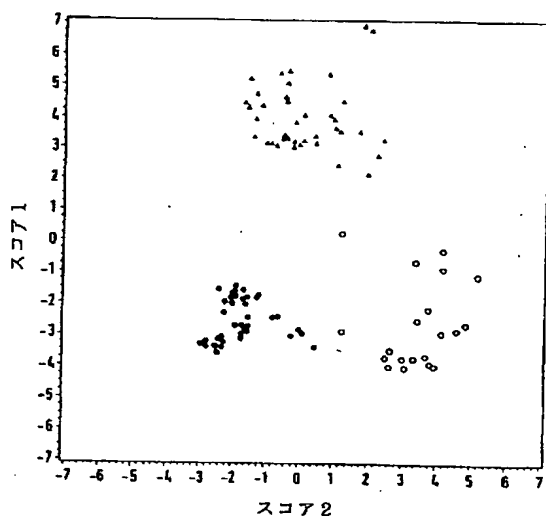
【図1】



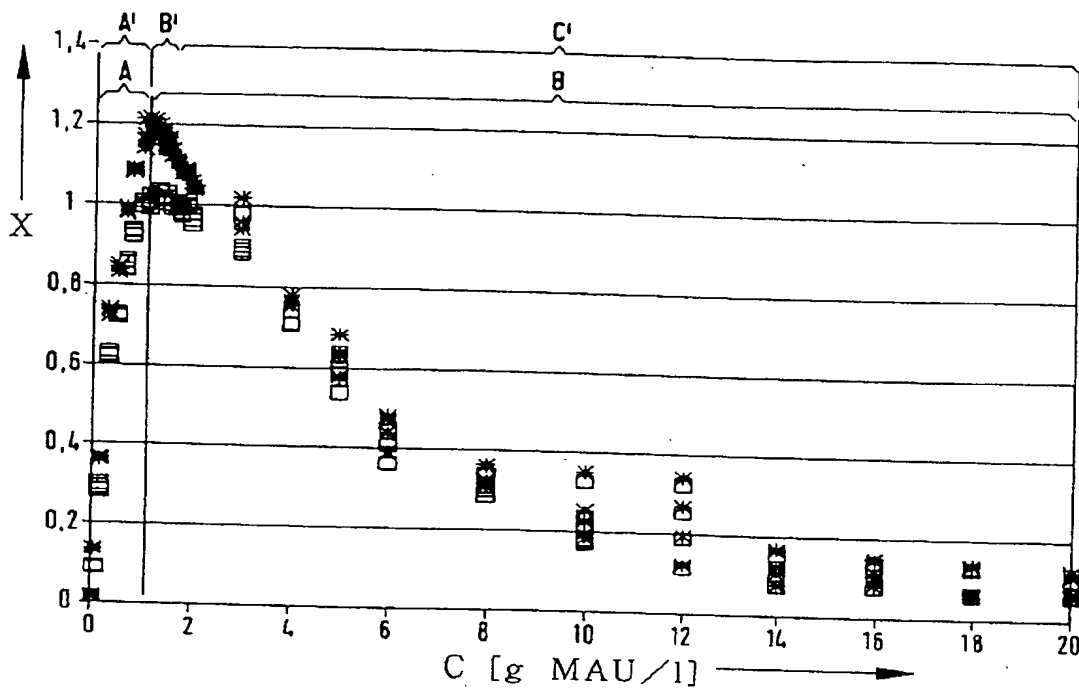
【図3】



【図4】



【図2】



## 【手続補正書】

【提出日】平成 5 年 8 月 10 日

## 【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 医学的試料中の成分濃度の解析的な測定方法であって、試薬との試料の反応が測定量  $S$  において時間依存性的変化  $S(t)$  となり、濃度  $C$  が  $S(t)$  から導出される入力変数  $X$  と、評価曲線  $C = f(X)$  にしたがって相関すること、同じ入力変数  $X$  の値が検量曲線の 2 つ以上のサブセクションにおいて異なる濃度  $C$  の値に対応するように、検量曲線  $X = f^{-1}(C)$  が単調でなく、とりうる  $X$  の値の 1 つ以上の部分について評価曲線があいまいであること、および入力変数  $X$  をサブセクションのうちの 1 つに指定し、それによって特定の濃度  $C$  とのあいまいでない相関がえられるように、つぎの段階：

a. トレーニング操作において、識別アルゴリズムがつぎの段階：

a. a  $S(t)$  が検量曲線  $X = f^{-1}(C)$  の 2 つのサブセクションに存在する既知の濃度  $C_j = C_1 \cdots C_m$

$m$  の数個のキャリブレーターにもとづいて測定されること、

a. b  $S(t)$  の測定値から、ディスクリミネーターのセットをあらかじめ決められたディスクリミネーター生成方法にしたがって生成させること、

a. c ディスクリミネーターのセットから、多変量統計の手法によってキャリブレーターの濃度  $C_j = C_1 \cdots C_m$  それぞれについてスコアが計算されること、および

a. d キャリブレーターの濃度  $C_j = C_1 \cdots C_m$  についてのスコアが境界スコアによって別のサブセットに分けられうるかどうかを調べ、ここで濃度が正確に検量曲線のサブセクションに指定されるようになることをもって 1 回以上行なわれる段階、

b. トレーニング操作において、a. a から a. d までの段階を含む識別アルゴリズムが、実際の目的に充分的確なサブセクションの分離を a. d の段階において可能にするような効果的な識別アルゴリズムを確立するために、様々な生成方法によって  $S(t)$  の測定から生成した異なるディスクリミネーターのセットをもっておよび／または異なる多変量統計の手法をもって繰り返される段階および

c. 解析操作において

- c. a  $S(t)$  が分析されるべき試料から測定されること、  
 c. b  $S(t)$  から、解析スコアが前記効果的な識別アルゴリズムにしたがって計算されること、  
 c. c 解析スコアが境界スコアと比較されること、および

- c. d 入力変数  $X$  および入力変数  $X$  から濃度  $C$  が決定され、 $X$  の値が解析スコアを境界スコアと比較することによって検量曲線  $X = f^{-1}(C)$  のサブセクションのうちの1つに指定されるようになることが行なわれる段階が行なわれることを特徴とする測定方法。

---

フロントページの続き

- (72) 発明者 ライナー シェーファー  
 ドイツ連邦共和国、デー-81241 ミュン  
 ヘン、エーベンベックシュトラッセ 11  
 (72) 発明者 クリストフ バーディング  
 ドイツ連邦共和国、デー-81667 ミュン  
 ヘン、ピュトリッヒシュトラッセ 1

- (72) 発明者 フリードル ラング  
 ドイツ連邦共和国、デー-82327 ツチン  
 グ、ハーツォクシュタンツシュトラッセ  
 2  
 (72) 発明者 ヴィルヘルム クライダー  
 ドイツ連邦共和国、デー-82418 ムルナ  
 ウ、フロシュハウゼン 24  
 (72) 発明者 ベーター ボルフ  
 ドイツ連邦共和国、デー-82392 ハーバ  
 ッハ、マリーアンベーク 8